

ВІДГУК
офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора
Гордієнка Анатолія Дмитровича
на дисертацію Бондарєва Євгена Вікторовича "Експериментальне обґрунтування оптимізації профілактики та лікування холодової травми засобами метаболітотропної та протизапальної дії", подану до спеціалізованої Вченої ради Д.64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю
14.03.05 – фармакологія

Актуальність обраної теми.

Профілактика та лікування холодової травми (ХТ), яка виникає в результаті ушкодження організму низькими температурами залишається актуальною проблемою для практичної медицини та фармації. Ураженням холодом, особливо в зимовий період, спричинює вихід на інвалідність при відмороженнях і складає за даними літератури понад 30%, а при глибоких ураженнях понад 70%. Через високу інвалідність проблема холодових уражень набула не лише медичного, але й соціального характеру.

Недостатні прояви клінічних симптомів при відмороженнях у ранніх періодах травми та несвоєчасне лікування зумовлює необхідність забезпечити своєчасну діагностику та надання медичної допомоги, щоб уникнути загибелі потерпілих.

В результаті ХТ зниження загальної опірності організму, а це слабка фізична підготовка, тривала нерухомість, що погіршує системний та локальний кровообіг, погане харчування, перевтома, різні загальні захворювання, алкогольна інтоксикація посилюються зміни функції ендокринної та імунної систем, відбуваються порушення діяльності ЦНС, кровообігу, дихання, обміну речовин та інших життєво важливих процесів, що може привести до смерті.

Тому актуальні розробка та впровадження лікарських засобів, здатних відновлювати метаболічні процеси та мікроциркуляцію при ХТ – фригопротектори.

Сучасні лікарські засоби, як фригопротектори найчастіше застосовують актопротектори та нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), які впливають на основні ланки патогенезу ХТ. Вони не завжди є досить ефективними або мають серйозні побічні ефекти, крім того їх арсенал на ринку України обмежений. Единий актопротектор із фригопротекторною дією бемітил (діюча речовина – етилтіобензімідазол) в Україні не зареєстрований.

В зв'язку з цим одним з перспективних напрямків удосконалення фармакотерапії є вивчення як потенційних фригопротекторів вже відомих лікарських речовин з протизапальними, мембраностабілізувальними, антиоксидантними, актопротекторними, репаративними властивостями.

Доцільним є дослідження потенційних фригопротекторів різного походження, в тому числі препаратів глюкозаміну. Глюкозамін має широкий спектр фармакологічної активності: протизапальні, аналгетичні, мембраностабілізувальні, гепато-, нейро-, нефро-, кардіо-, гастро-, гравідо-, хондропротекторні, противиразкові, антиоксидантні властивості тощо, які в сукупності є предикторами інтегральної фригопротекторної активності.

Фригопротекторна дія глюкозаміну не вивчалася.

З огляду на вищезазначене доцільним є дослідження фригопротекторної дії глюкозаміну та інших препаратів в визначення їх ефективності для профілактики та лікування холодових травм.

Таким чином, вибір теми дисертації є обґрунтованим, актуальність проблеми, що вирішується у роботі, сумнівів не викликає, як з точки зору її практичного, так і теоретичного значення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ МОЗ України у рамках тем «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (номер держреєстрації 0103U000478, 2003–2013 рр.) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956, 2014–2023 рр.).

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Наукові положення дисертаційної роботи Бондарєва Євгена Вікторовича мають достатній рівень обґрунтованості й достовірності, оскільки виконані на сучасному науковому рівні, базуються на адекватних методах дослідження, достатній кількості лабораторних тварин та експериментальних моделей, коректній статистичній обробці та інтерпретації результатів. Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узгодженими з метою та завданнями дослідження.

Фактичний матеріал достатньо повно ілюстрований таблицями та рисунками.

Матеріал дисертаційної роботи викладений логічно та послідовно.

Достовірність отриманих у роботі результатів не викликає сумнівів, оскільки базується на сучасних інформативних методах досліджень, коректним обробленням отриманих даних.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше визначено, що 8 препаратів та субстанцій з досліджених 13 потенційних фригопротекторів природного та синтетичного походження статистично значуще збільшують час життя тварин в умовах гострого загального охолодження, а саме: Глюкозаміну гідрохлорид - його фригопротекторна активність на моделі гострого загального охолодження, склала 76,4 % і була найбільшою, у «Глюкозаміну-С БХФЗ» склала 33 %. Підтверджено виразні фригопротекторні властивості ацетилсаліцилової кислоти, вперше виявлено їх у препаратів кверцетину «Ліпофлавону» (57,8 %)

та «Корвітину» (16,7 %), а також «Ліпіну» (59,2 %), беміту (20,9 %), які є перспективними фригопротекторами.

При гострому загальному охолодженні та локальній ХТ під впливом глюкозаміну гідрохлориду вперше виявлено нормалізацію температури тіла. Встановлено, що глюкозаміну гідрохлориду покращує стан ЦНС тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження, нормалізує м'язовий тонус та фізичну витривалість мишей. Профілактичне введення препаратів глюкозаміну позитивно впливає на гістоструктуру наднирників шурів із гострою ХТ, обмежуючи стресову реакцію.

Вперше виявлено вплив потенційних фригопротекторів на стан видільної функції нирок після гострого загального охолодження. Глюкозаміну гідрохлориду на відміну від ацетилсаліцилової кислоти та «Ліпіну», нормалізує концентраційну функцію нирок.

Дисертантом вперше встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид при гострому загальному охолодженні нормалізує стан серцево-судинної системи, статистично значуще ($p<0,05$) зменшує систолічний показник (СП), що вказує на позитивну інотропну дію глюкозаміну гідрохлориду, за якою він переважає інші фригопротектори.

Показано, що глюкозаміну гідрохлорид та «Глюкозаміну-С БХФЗ» виявляють потужну репаративну дію та позитивний вплив на морфофункціональний стан наднирників та шкіри шурів після ХТ на відміну від ацетилсаліцилової кислоти.

Вперше доведено, що глюкозаміну гідрохлорид та «Глюкозамін-С БХФЗ» вірогідно нормалізують ступінь та швидкість агрегації тромбоцитів – як АДФ-, так і адреналін-індукованої щодо показників групи контрольної патології. Вперше показано, що застосування ацетилсаліцилової кислоти в умовах ХТ, навпаки, може бути небезпечним внаслідок надмірного пригнічення агрегації тромбоцитів, що загрожує кровотечами.

Вперше встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид на моделі алкогольної інтоксикації незалежно від шляху введення чинить потужний алкопротекторний ефект, що у 2,5 рази перевищує препарат порівняння пірацетам.

На моделі гострої ХТ та тлі алкогольної інтоксикації глюкозаміну гідрохлорид статистично значуще збільшував час життя мишей порівняно з контрольною патологією у середньому на 28,6 %.

Під дією глюкозаміну гідрохлориду у дозах 25 та 50 мг/кг на тлі гострого загального охолодження без алкогольної інтоксикації тривалість життя тварин зростає на 26,4 % та 28,1 % відповідно, що підтверджує фригопротекторні властивості досліджуваної речовини.

Вперше з'ясовано основні ланки механізмів фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду на моделях ХТ. Виявлено, що рівень ендогенного N-ацетил-глюкозаміну в печінці, нирках та сироватці крові є маркером ступеня холодового пошкодження організму та інформативним критерієм ефективності лікування. Глюкозаміну гідрохлорид сприяє нормалізації вмісту N-ацетил-глюкозаміну в печінці, нирках та сироватці крові. Вперше показано, що під

дією Глюкозаміну гідрохлориду за ХТ показники вуглеводного обміну та температуру тіла, в той час як під дією ацетилсаліцилової кислоти спостерігається лише тенденція до відновлення цих показників. Встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид на моделі ХТ вірогідно знижує вміст протизапального інтерлейкіну IL-1 β (на 72,2 % проти 34,2 % на тлі ацетилсаліцилової кислоти) та підвищує вміст протизапального IL-10 (на 74,7 %). Доведено, що в умовах холодового стресу при локальній ХТ препарати глюкозаміну та меншою мірою ацетилсаліцилова кислота вірогідно знижують рівень кортизолу в сироватці крові, що свідчить про стреспротекторні властивості.

Вперше встановлено участь α_1 -адreno- та М-холінорецепторів у механізмі фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду при гострому загальному охолодженні у мишей: Глюкозаміну гідрохлорид зберігає фригопротекторні властивості на тлі блокади β -адренорецепторів різних типів та стимуляції α_2 -адренорецепторів, але в умовах блокади М-холінорецепторів або α_1 -адренорецепторів його фригопротекторні властивості не виявляються.

Вперше доведено, що застосування дієтичної добавки "Глюкозамін-С БХФЗ" в умовах двотижневого впливу низьких температур довкілля під час зимових польових навчань у курсантів достовірно знижує частоту виникнення гострих респіраторних захворювань ($p<0,05$), покращує адаптацію організму до тривалої дії холодового чинника, підвищує концентрацію уваги (на 19,8 %) та розумову працездатність (на 22,7 %) за результатами коректурної проби.

Значущість праці для науки та практики.

Дані отримані дисертантом, обґрунтують доцільність пошуку та дослідження нових фригопротекторів серед природних та синтетичних сполук. Результати поглиблого вивчення фармакологічних властивостей препаратів та субстанції глюкозаміну дозволяють вважати глюкозаміну гідрохлориду та «Глюкозамін-С БХФЗ» перспективними фригопротекторами з багатовекторним механізмом дії та здатністю впливати на більшість основних ланок патогенезу ХТ. За комплексною фригопротекторною дією та рівнем безпеки препарати глюкозаміну вірогідно перевершують відомий фригопротектор ацетилсаліцилову кислоту. Отримані дані відкривають нові можливості щодо використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці ХТ різної етіології та є обґрунтуванням доцільності розширення показань до медичного застосування глюкозаміну гідрохлориду.

Інформаційними листами про нововведення у сфері охорони здоров'я № 94 від 2014 р. «Перспективи використання глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії при поєднаній алкогольно-холодовій травмі» та № 95 від 2014 р. «Перспективи використання глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії» продемонстровано перспективи вдосконалення фармакотерапії ХТ (загальне охолодження) та при поєднаній алкогольно-холодовій травмі. Патентами України на корисну модель «Застосування корвітину як засобу фригопротекторної дії» (№ 52376 від 25.08.2010), «Застосування ліпофлавону як засобу фригопротекторної дії» (№ 52378 від

25.08.2010), «Застосування ліпіну як засобу фригопротекторної дії» (№ 52379 від 25.08.2010), патентами України на винахід «Застосування глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії» (№ 96649 UA від 25.11.2011), «Застосування полентару як засобу фригопротекторної дії» (№ 106373 UA від 26.08.2014) висвітлено лікування ХТ шляхом використання низки фригопротекторних засобів природнього та синтетичного походження.

Вдосконалено методичні підходи до оптимізації надання медичної допомоги та фармакотерапії постраждалим від ХТ, що підтверджено методичними рекомендаціями (протокол ДЕЦ МОЗ України № 6 від 27.02.2018 р.), методичні підходи до оптимізації доклінічних досліджень лікарських засобів з фригопротекторними властивостями (протокол ДЕЦ МОЗ України № 6 від 27.02.2018 р.).

Отримані результати відкривають нові можливості використання аміноцукрів у лікуванні та профілактиці ХТ різної етіології, дозволяють розширити показання до медичного застосування глюкозаміну гідрохлориду, який до цього часу використовується переважно як хондропротектор для лікування захворювань суглобів та хребта.

У рамках діяльності кластеру «Повноцінне харчування: інноваційні аспекти технології, енергоефективного виробництва та маркетингу», що об'єднує НФаУ та Національну академію Національної гвардії України (НАНГУ), у зимовий період 2018 р. в умовах польових навчань виявлено в експерименті та підтверджено в досліженні на курсантах-добровольцях фригопротекторну дію біологічно активної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ», яка містить глюкозаміну гідрохлорид та вітамін С, що використовується в практичній діяльності НАНГУ.

Результати дослідження впроваджено у науково-педагогічний процес кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету, кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету, кафедри фармакології Таджицького державного медичного університету ім. Абу Алі Ібн Сіно, відділу фармакології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармакології з клінічною фармакологією ТДМУ ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедри фармакології і фармакотерапії Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «УМСА», кафедри технічного та тилового забезпечення факультету логістики Національної академії Національної гвардії України, у роботу комунального закладу «Рівненська обласна наукова медична бібліотека».

Оцінка змісту дисертації та її оформлення. Дисертаційна робота складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, 9 розділів власних

досліджень, аналізу та узагальненню результатів, висновків, списку використаних джерел літератури (579 посилань, з них 390 – кирилицею, 189 – латиницею) та додатків.

Обсяг основного тексту дисертації складає 416 сторінок друкованого тексту, її ілюстровано 45 таблицями та 70 рисунками. Оформлення дисертації відповідає вимогам "До оформлення дисертацій, затверджених Наказом МОН України №40 від 12.01.2017р".

Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.

Наукові положення, висновки та практичні рекомендації викладені в опублікованих працях і відповідають результатам досліджень, представлених у розділах дисертації.

Вступ дисертації включає дані щодо актуальності, мети та завдання дослідження, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, зв'язку роботи з плановою НДР, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, обсягу і структури, публікацій.

В огляді літератури проаналізовано та узагальнено літературні дані стосовно досліджуваної теми холодової травми та шляхів підвищення ефективності її лікування та профілактики: етіології та патогенезу загального охолодження та відморожень; класифікації холодових травм; лікуванню та профілактици холодової травми; фармакологічним властивостям відомих фригопротекторів; фармакологічним властивостям глюкозаміну гідрохлориду як обґрунтування доцільності його використання з метою фригопротекції.

Зміст розділу свідчить про високу кваліфікацію дисертанта.

Розділ «Матеріали та методи»

При проведенні досліджень дисертантом використано фармакологічні, біохімічні, гематологічні, імунобіохімічні, гістологічні, психологічні та статистичні методи.

Дослідження проведено на 530 білих мишей обох статей масою 18-26 г та 362 білих щурів масою 180-240 г з дотриманням міжнародних та національних біоетичних норм та принципів, що засвідчено висновком комісії з біоетики НФаУ.

Автором використано загальноприйняті сучасні експериментальні моделі та методи.

Методичний рівень дослідження є достатньо сучасним. Комплекс обраних методів адекватний поставленій меті та задачам.

Третій розділ присвячений скринінговим дослідженням перспективних лікарських препаратів та речовин як засобів фригопротекторної дії: скринінговим дослідженням потенційних фригопротекторів на моделі гострого загального охолодження.

У результаті скринінгу 13 фригопротекторів природного та синтетичного походження визначено, що 8 із них, а саме глюкозаміну гідрохлорид, «Глюкозамін-С БХФЗ», ацетилсаліцилова кислота, «Корвітин», «Ліпофлавон», «Ліпін», аскорбінова кислота, екстракт родіоли рідкий достовірно збільшують

час життя тварин в умовах гострого загального охолодження, тобто виявляють фригопротекторну активність у межах від 16,7 % до 76,4 %.

Найбільш ефективними виявилися глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг (фригопротекторна активність 76,4 %), ацетилсаліцилова кислота в дозі 50 мг/кг (73,5 %), дієтична добавка «Глюкозамін-С БХФЗ», яка містить глюкозаміну гідрохлорид в дозі дозі 82,5 мг/кг (33 %), які і були обраними для подальших поглиблених досліджень фригопротекторної дії.

Встановлено статеві відмінності чутливості до холодової травми на моделі гострого загального охолодження у мишей. Було встановлено, що у групі самок час виживання при загальному охолодженні статистично значуще (у середньому на 21 %) перевищував відповідний показник самців.

У наступному четвертому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення стреспротекторної дії потенційних фригопротекторів в умовах гострої загальної холодової травми: стреспротекторної дії препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти в умовах гострої загальної холодової травми.

Досліджувані препарати глюкозаміну «Глюкозамін-С БХФЗ», та субстанція глюкозаміну гідрохлориду вірогідно ($p<0,05$) нормалізують масовий коефіцієнт наднирників, тімусу, знижують виразкоутворення та зменшують гіперемію слизової оболонки шлунка. Ацетилсаліцилова кислота вірогідно ($p<0,05$) нормалізує масовий коефіцієнт наднирників та має тенденцію до відновлення масового коефіцієнта тімусу, сприяє посиленню гіперемії слизової оболонки шлунка порівняно з показниками групи контрольної патології.

Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду позитивно впливає на гістоструктуру наднирників щурів з гострою холодовою травмою, відновлює параметри клітин пучкової зони, стабілізує функціональну активність кортикоцитів пучкової зони.

«Глюкозамін-С БХФЗ» та субстанція глюкозаміну гідрохлориду на світлооптичному рівні виявляють позитивний вплив на морфофункціональний стан наднирників у щурів за умов гострої загальної холодової травми.

У п'ятому розділі представлені результати з вивчення впливу сполук лідерів за фригопротекторною активністю на стан центральної нервової системи у відновному періоді після гострого загального охолодження: впливу потенційних фригопротекторів на поведінкові реакції за тестом відкритого поля, на м'язовий тонус і координацію рухів у мишей, на фізичну витривалість тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження.

Встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид у дозі 25 мг/кг покращує стан центральної нервової системи експериментальних тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження, а саме виявляє позитивний вплив на поведінку (тест відкритого поля) та фізичну витривалість (у тесті стрижня, що обертається, за показниками координації рухів та м'язового тонусу, за показником тривалості плавання у мишей) перевершує показники груп інтактного контролю, контрольної патології, ацетилсаліцилової кислоти та етилтіобензімідазолу.

У наступному шостому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення впливу сполук лідерів за фригопротекторною активністю на стан внутрішніх органів та шкіри тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження: впливу сполук лідерів за фригопротекторною активністю на видільну функцію нирок мишей, на стан серцево-судинної системи щурів після гострого загального охолодження, та морфологічні дослідження шкіри щурів у відновному періоді після гострого загального охолодження.

Встановлено, що за гострої загальної холодової травми глюкозаміну гідрохлорид сприяє вірогідній нормалізації температури тіла щурів $32,8\pm3,3$ °C проти $31,4\pm4,4$ °C у групі контрольної патології ($p<0,05$) та групи ацетилсаліцилової кислоти $31,9\pm4,2$ °C.

«Глюкозамін-С БХФЗ» та глюкозаміну гідрохлорид сприяють достовірному відновленню концентраційної функції нирок, систолічного, діастолічного та середнього артеріального тиску.

Ацетилсаліцилова кислота не нормалізує артеріальний тиск, не впливає на систолічний показник. Препарати глюкозаміну виявляють потужну репаративну дію та позитивно впливають на морфофункціональний стан наднирників та шкіри щурів на відміну від ацетилсаліцилової кислоти, застосування якої не сприяє відновленню порушеній гістоструктури шкіри тварин.

У сьомому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення стану системи крові тварин у відновному періоді після гострого загального охолодження: гемограмі щурів, впливу сполук лідерів за фригопротекторною активністю на коагуляційну систему крові щурів, агрегації тромбоцитів у щурів після гострого загального охолодження.

Показано, що на моделі гострого загального охолодження у гемограмі щурів з холодовою травмою виявлено помірну анемію (середній вміст еритроцитів $(7,14\pm0,17)\times10^{12}/л$ проти $(8,12\pm0,13)\times10^{12}/л$ у контролі) та зростання ШОЕ ($10,60\pm0,51$ мм/год проти $2,40\pm0,40$ мм/год у контролі).

Введення тваринам глюкозаміну на тлі холодової травми вірогідно знижує ШОЕ відносно показників групи контрольної патології, що свідчить про виразні протизапальні властивості. Під впливом препарату порівняння ацетилсаліцилової кислоти, спостерігається лише тенденція до зниження ШОЕ та менш виразна протизапальна дія.

Глюкозаміну гідрохлорид і «Глюкозамін-С БХФЗ» достовірно ($p<0,05$) зменшують ШОЕ ($7,0\pm0,37$ мм/год) і ($7,50\pm0,43$ мм/год) відповідно, що вказує на протизапальні властивості.

«Глюкозамін-С БХФЗ» та глюкозаміну гідрохлорид сприяють вірогідній нормалізації ступеню та швидкості агрегації тромбоцитів – як АДФ- (22,5 %, 6,8 % та 17 %, 6,5 % відповідно), так і адреналін-індукованої (12,6 %, 20,7 % та 9,9 %, 17,4 % відповідно) щодо показників групи контрольної патології. При застосуванні ацетилсаліцилової кислоти у цих умовах надмірно (на 34,2 % та 15,3 %) пригнічується адреналін-індукована агрегація тромбоцитів, що

загрожує кровотечею. Під впливом препаратів глюкозаміну гемореологічні властивості поліпшуються – час згортання крові зростає на 37,6 % ($p<0,05$), активований частковий тромбіновий час знижується відносно показників групи інтактного контролю у 1,16 та 1,15 разу. Ацетилсаліцилова кислота не виявила антитромботичних властивостей на моделі гострої загальної холодової травми.

У восьмому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення ефективності сполук лідерів за фригопротекторною активністю за профілактичного застосування при комбінованій алкогольно-холодовій травмі: впливу глюкозаміну гідрохлориду на перебіг гострої алкогольної інтоксикації у мишей, дослідженню профілактичного впливу сполук лідерів за фригопротекторною активністю при комбінованій алкогольно-холодовій травмі у мишей.

Встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг при в/ш і в/о введенні виявляє виразну алкопротекторну дію, за якою майже в 2,5 разу перевищує дію пірацетаму, зменшуючи кількість мишей, що впали до алкогольного наркозу, та його тривалість на 64,8-68,1% ($p<0,05$).

При комбінованій алкогольно-холодовій травмі на тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду в дозі 50 мг/кг час життя мишей значуще збільшується порівняно з показником контрольної патології у середньому на 28,6 %, доза 25 мг/кг є неефективна. Ацетилсаліцилова кислота виявляє фригопротекторну активність в дозі 25,0 мг/кг лише на моделі гострого загального охолодження без алкогольної інтоксикації, і не виявляє в дозах 25,0 мг/кг і 250,0 мг/кг при холодовій травмі з алкогольною інтоксикацією, що свідчить про переваги глюкозаміну гідрохлориду у лікуванні алкогольно-холодової травми.

У дев'ятому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення ефективності потенційних фригопротекторів при локальній холодовій травмі (відмороженні): впливу сполук – лідерів за фригопротекторною дією на температуру тіла щурів, на поведінкові реакції та фізичну витривалість щурів, на коагуляційну систему крові, на динаміку загоєння шкіри, морфологічні зміни шкіри щурів під впливом потенційних фригопротекторів в умовах гострої локальної холодової травми.

Показано, що на моделі гострої локальної холодової травми препарати глюкозаміну сприяють вірогідній ($p<0,05$) нормалізації температури тіла щурів щодо показників групи контрольної патології. Ацетилсаліцилова кислота менш виразно сприяла нормалізації температури тіла. Виявлено позитивний вплив препаратів глюкозаміну на поведінкові реакції у тесті відкритого поля та фізичну витривалість, що свідчить про їх сприятливий вплив на ЦНС і функціональний стан скелетних м'язів та підтверджує їх виразні фригопротекторні властивості.

За орієнтовно-дослідницькою активністю глюкозаміну гідрохлорид вірогідно ($p<0,05$) перевершує ацетилсаліцилову кислоту. Препарати глюкозаміну сприяють достовірному збільшенню фізичної витривалості тварин,

переважаючи ацетилсаліцилову кислоту в тесті плавання з навантаженням в середньому в 1,2 разу.

«Глюкозамін-С БХФЗ» та глюкозаміну гідрохлорид на 10 добу дослідження нормалізують реологічні властивості крові та функції печінки, що наближаються до рівня інтактного контролю. В умовах локальної холодової травми під дією глюкозаміну гідрохлориду на 10 добу вірогідно зменшується на 5 % ($p<0,05$) площа уражених ділянок шкіри, в той час як під впливом «Глюкозамін-С БХФЗ» площа уражених ділянок шкіри зменшується на 1,5 %, а в групі ацетилсаліцилової кислоти вона зростає на 1,2 % відносно показників вихідного стану.

У десятому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення механізмів фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду як лідера за ефективністю захисного впливу при холодовій травмі: дослідження вмісту N-ацетилглюкозаміну у сироватці крові, в печінці та нирках, на показники вуглеводного обміну, на вміст інтерлейкінів у крові тварин, на прооксидантно-антиоксидантний баланс у тварин при гострій загальній холодовій травмі у щурів, дослідження впливу глюкозаміну гідрохлориду на вміст кортизолу в крові, на прооксидантно-антиоксидантний баланс у тварин в умовах гострої локальної холодової травми у щурів та дослідження участі адreno- та холінорецепторів у механізмі фригопротекторної дії при гострій загальній холодовій травмі у мишей.

В цьому розділі висвітлені основні ланки механізму фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду на моделях загальної та локальної холодової травми. Виявлено, що при гострій ХТ вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну в печінці і нирках знижується та підвищується у сироватці крові, що може бути маркером ступеня пошкодження організму, а також інформативним критерієм ефективності лікування. Глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг сприяє нормалізації N-ацетилглюкозаміну в печінці, нирках та сироватці крові.

На моделях гострого загального охолодження та локальній холодовій травмі глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг забезпечує більш виразну нормалізацію температури тіла, показників вуглеводного обміну та кореляційного зв'язку між ними, в той час як під дією ацетилсаліцилової кислоти спостерігається тенденція до їх відновлення.

За умов гострого загального охолодження ацетилсаліцилова кислота, «Глюкозамін-С БХФЗ» та особливо глюкозаміну гідрохлорид виявляють виразні протизапальні властивості, про що свідчить вірогідне зниження інтерлейкіну IL-1 β та підвищення вмісту протизапального IL-10 в крові в порівнянні з показниками контрольної патології.

Глюкозаміну гідрохлорид, «Глюкозамін-С БХФЗ» та меншою мірою ацетилсаліцилова кислота на моделі локальної холодової травми вірогідно знижують вміст кортизолу у сироватці крові та нормалізують температуру тіла відносно показника контрольної патології, що є ланкою механізму стреспротекторної дії.

Глюкозаміну гідрохлорид, «Глюкозамін-С БХФЗ» та меншою мірою ацетилсаліцилова кислота на моделях гострої та локальної холодової травми виявляють антиоксидантні властивості, нормалізують процеси ПОЛ відносно показників групи контрольної патології.

Глюкозаміну гідрохлорид зберігає фригопротекторні властивості на тлі блокади β_1 - та β_2 -адренорецепторів пропранололом та стимуляції α_2 -адренорецепторів клонідином. В умовах блокади М-холінорецепторів атропіну сульфатом або α_1 -адренорецепторів доксазозином фригопротекторна дія глюкозаміну гідрохлориду не виявляється. Таким чином М-холінореактивні та α_1 -адренореактивні системи залучені до механізмів цієї дії.

У одинадцятому розділі дисертації представлені результати експериментів з вивчення ефективності дієтичної добавки «Глюкозамін-С БХФЗ» у курсантів в умовах польових навчань у зимовий період.

Показано, що застосування дієтичної добавки "Глюкозамін-С БХФЗ" в умовах двотижневого впливу низьких температур довкілля під час зимових польових навчань у курсантів достовірно знижує ризик виникнення гострих респіраторних захворювань (з 12,5 % до 0 %, $p<0,05$), знижує ШОЕ, про що свідчить про протизапальну дію, покращує адаптацію організму до тривалої дії холодового чинника, підвищує концентрацію уваги (на 19,8 %) та розумову працездатність (на 22,7 %). Робиться висновок про те, що отримані результати дають підставу рекомендувати дієтичну добавку "Глюкозамін-С БХФЗ" як фригопротектор в умовах функціонування організму при низьких температурах довкілля.

У розділі "**Аналіз та узагальнення результатів**" дисертант кваліфіковано підсумовує та аналізує результати, викладені у попередніх розділах дисертації. Розділ написано логічно, що дозволило систематизувати експериментальний матеріал, отриманий дисертантом у дослідженнях.

Результати поглиблого вивчення фармакологічних властивостей препаратів глюкозаміну отримані Бондаревим Євгеном Вікторовичем дозволяють вважати субстанцію глюкозаміну гідрохлориду та «Глюкозамін-С БХФЗ» перспективними фригопротекторами з багатовекторним механізмом дії та здатністю впливати на більшість основних ланок патогенезу холодової травми. За комплексною фригопротекторною дією, а також за рівнем безпеки препарати глюкозаміну вірогідно перевершують відомий фригопротектор ацетилсаліцилову кислоту. Отримані дані відкривають нові можливості щодо використання препаратів глюкозаміну в лікуванні та профілактиці холодової травми різної етіології та є обґрунтуванням доцільності розширення показань до медичного застосування глюкозаміну гідрохлориду, який наразі використовується переважно як хондропротектор.

Обговорення отриманих результатів проведено всебічно, що дозволило зробити науково обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій у роботі меті та завданням.

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Автореферат дисертації Бондарєва Євгена Вікторовича повністю відображає її зміст. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 54 наукові роботи, з них 15 статей у виданнях, що рекомендовано МОН України, 4 статті у зарубіжних журналах, які входять до міжнародних науковометричних баз, 1 стаття у профільному науковому журналі РФ, 5 патентів України, 2 інформаційні листи, 2 методичні розробки та 20 тез міжнародних і вітчизняних науково-практичних форумів.

Зауваження щодо змісту дисертацій:

- 1.Розділ 3, 113с, в таблиці 3.2 група препарат, в колонці контроль *не вказано кількість тварин*.
- 2.Розділ 6, 147с, 4 абзац Порівняно з ІК у тварин групи КП статистично значуще знизився вміст білка в сечі, проте його екскреція не відрізнялась у зв'язку зі збільшенням діурезу (рис. 6.1), а також підвищилась екскреція сечовини (*потрібно зробити посилання на табл.6.4*).
- 3.Розділ 10, 207с, 4 абзац У сироватці крові відзначена тенденція до нормалізації рівня N-ацетилглюкозаміну (*потрібно вказати під дією глюкозаміну гідрохлориду*), який був лише в 1,2 разу нижче такого у групі КП.
- 4.Розділ 10, 218с, Другий абзац При використанні Г г/х та «Глюкозаміну-С БХФЗ» рівень кортизолу вірогідно перевищував показники ІК тільки в 1,2 разу (р <0,05). Потрібно замість *тільки в 1,2 разу розписати окремо для двох препаратів в 1,15 разу глюкозаміну гідрохлориду і в 1,2 разу «Глюкозаміну-С БХФЗ*.
- 5.Розділ Аналіз та обговорення результатів, на сторінках: 253с 1 і 2 абзац, 254с 2 абзац, 255с 1 і 3 абзац, 256с 1 абзац, 266с 2 і 4 абзац *немає посилання*.

Подекуди трапляються орфографічні та синтаксичні помилки.

Запитання, які виникли в процесі рецензування:

- 1.Які методи експрес-діагностики можуть бути використані при виявленні проявів клінічних симптомів у ранніх періодах холодової травми?.
- 2.Поясніть правомірність моделі гострого загального охолодження тварин до -18 °C, яка дозволяє на інтегральному рівні оцінювати переносимість тваринами екстремальних холодових впливів та можливості виконання при цьому різних видів діяльності?.
3. Чому в роботі не використовувалась методика гострої повітряної гіпотермії від 0 до 5°C, як і методики імерсійної гіпотермії – плавання тварин з грузом 5% від маси тіла в попередньо десатурованій воді з температурою 10-12°C, яка описана в роботі Е.Б.Шустов, Капанадзе Г.Д., Фокин Ю.В., Матвеенко Е.Л. Методические особенности биомедицинских исследований влияния фармакологических средств на устойчивость организма к острой общей гипотермии. *Биомедицина.2017.№3.С.4-15.* Ці методики є перспективними для доклінічного дослідження фригопротекторної активності лікарських засобів?.

4.Які механізми дії субстанції глюкозаміну гідрохлориду призводять до підвищення тепlopродукції тварин після гострого загального охолодження до -18 °C ?.

5.Поясніть подальші перспективи щодо використання препаратів

глюкозаміну в лікуванні і профілактиці холодової травми різної етіології?

Зазначені зауваження не мають принципового характеру і суттєво не впливають на науково-практичну цінність дисертації, яка в цілому заслуговує високої оцінки.

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Бондарєва Євгена Вікторовича "Експериментальне обґрунтування оптимізації профілактики та лікування холодової травми засобами метаболіtotропної та протизапальної дії" є завершеною науково-дослідною працею, у якій наведено вирішення наукової проблеми, пов'язаної з підвищеннем ефективності лікування гострого загального охолодження та відмороження. Вперше запропоновано використання глюкозаміну гідрохлориду для профілактики та лікування холодової травми. Виявлено основні механізми фригопротекторної дії глюкозаміну гідрохлориду. Доведено позитивний вплив фригопротектора – дієтичної добавки «Глюкозаміну-С БХФЗ» з багатовекторним механізмом дії – на курсантів Національної академії Національної гвардії України в умовах тривалого перебування під впливом низьких температур. Доведена перспективність подальшого вивчення та створення лікарських препаратів, що містять глюкозаміну гідрохлорид, при різних видах холодової травми.

За актуальністю, новизною, практичним значенням, ступенем оприлюднення та загальним науковим рівнем робота повністю відповідає вимогам "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. № 567 (із змінами), які висуваються до докторських дисертацій, а її автор, Бондарєв Євген Вікторович, заслуговує присудження наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент

Професор кафедри органічного синтезу і
нанотехнологій Національного технічного
університету (Харківський політехнічний інститут)
доктор фармацевтичних наук, професор

А.Д. Гордієнко

Підпис А.Д. Гордієнка засвідчує:

Вчений секретар Національного технічного
університету (Харківський політехнічний інститут)

Ю.О. Заковоротний

